

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 1)

(11) 特許番号

特許第3057446号
(P3057446)

(45) 発行日 平成12年 6 月26日 (2000. 6. 26)

(24) 登録日 平成12年 4 月21日 (2000. 4. 21)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I
D 0 6 M 13/21		D 0 6 M 13/21
A 6 1 K 31/715		A 6 1 K 31/72
A 6 1 L 15/16		A 6 1 L 15/01
// D 0 6 M 101:06		

請求項の数13(全 8 頁)

(21) 出願番号 特願平11-58412

(22) 出願日 平成11年 3 月 5 日 (1999. 3. 5)

審査請求日 平成11年 3 月 5 日 (1999. 3. 5)

(73) 特許権者 000137052

株式会社ホギメディカル
東京都文京区湯島 1 丁目12番 4 号

(72) 発明者 徐 吉夫

東京都文京区湯島 1 丁目12番 4 号、株式
会社 ホギメディカル内

(72) 発明者 熊田 祐治

東京都文京区湯島 1 丁目12番 4 号、株式
会社 ホギメディカル内

(72) 発明者 田辺 孝治

東京都文京区湯島 1 丁目12番 4 号、株式
会社 ホギメディカル内

(74) 代理人 100087550

弁理士 梅村 莞爾

審査官 真々田 忠博

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 可溶性創傷治癒止血セルロース繊維とその製造方法、及びこれを用いた創傷部の止血治癒方法

1

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 セルロース分子を構成するグルコース単位中の水酸基を置換度が 0. 5 - 1. 0 未満となるようにカルボキシメチル化した天然もしくは再生セルロース繊維からなることを特徴とする可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。

【請求項 2】 天然もしくは再生セルロース繊維が数本の甘撚りの単糸からなる引き揃え糸であることを特徴とする請求項 1 に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。

【請求項 3】 天然もしくは再生セルロース繊維が数本の甘撚りの単糸からなる引き揃え糸を平織りもしくは綾織りした織地であることを特徴とする請求項 1 に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。

【請求項 4】 引き揃え糸の太さは 20 - 100 番手で

2

あることを特徴とする請求項 2 又は 3 に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。

【請求項 5】 カルボキシメチル化した天然もしくは再生セルロース繊維を粉状としてなることを特徴とする請求項 1 乃至 4 の何れかに記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。

【請求項 6】 カルボキシメチル化した天然もしくは再生セルロース繊維を綿状としてなることを特徴とする請求項 1 乃至 4 の何れかに記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。

【請求項 7】 天然もしくは再生セルロース繊維を水酸化ナトリウム水溶液で処理した後、モノクロロ酢酸溶液と反応させてセルロース分子を構成するグルコース単位中の水酸基を置換度 (エーテル化度) が 0. 5 - 1. 0 未満となるようにカルボキシメチル化し、精製してなる

10

ことを特徴とする可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の製造方法。

【請求項 8】 モノクロロ酢酸溶液とは 4～18 時間反応させてなることを特徴とする請求項 7 に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の製造方法。

【請求項 9】 天然もしくは再生セルロース繊維が数本の甘擦りの単糸からなる引き揃え糸であることを特徴とする請求項 7 又は 8 に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の製造方法。

【請求項 10】 天然もしくは再生セルロース繊維が数本の甘擦りの単糸からなる引き揃え糸を平織りもしくは綾織りした織地であることを特徴とする請求項 7 又は 8 に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の製造方法。

【請求項 11】 引き揃え糸の太さは 20～100 番手であることを特徴とする請求項 9 又は 10 に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の製造方法。

【請求項 12】 天然もしくは再生セルロース繊維をカルボキシメチル化した後、さらに粉状としてなることを特徴とする請求項 7 乃至 10 の何れかに記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。

【請求項 13】 天然もしくは再生セルロース繊維をカルボキシメチル化した後、さらに綿状としてなることを特徴とする請求項 7 乃至 10 の何れかに記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、細胞接着促進効果を有する可溶性創傷止血材とその製造方法及びこれを用いた創傷部の止血治療方法に係り、詳しくは、体内および体外の創傷患部に施用することにより血液凝固作用および細胞拡張作用を促す体内吸収性の可溶性創傷被覆止血材料とその製造方法及びこれを用いた創傷部の止血治療方法に関する。

【0002】

【従来の技術】 従来の創傷止血材としては、酸化セルロース製剤、ゼラチン製剤、及び微繊維性コラーゲンの 3 種が知られ、医薬品あるいは医療用具として既に使用されている。酸化セルロース製剤は、主構造を構成しているポリ無水グルコン酸がヘモグロビンと著しい親和性をもち、これと塩を形成することによって止血作用をしめす。この凝血促進作用は、血液凝固機序に対する作用より、むしろ物理的效果と考えられている。すなわち、血液の浸潤により本剤が膨張し褐色または黒色のゼラチン状の塊となって凝血物の形成を促進し、局部出血の止血補助剤として効果を発揮し、約 2 週間で吸収されるものである。また、微繊維性コラーゲンは牛真皮などから抽出した天然コラーゲンを主な構成物としており、血液との接触により血小板凝集の形成を介して止血を行う。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】 しかしながら、酸化セ

ルロース製剤は、血液凝固機序に直接作用しないため、凝血作用が弱く、さらに体内で完全に吸収されるのに約 2 週間を要するため、その間患部の炎症、癒着等を引き起こす原因となる。また、ゼラチン製剤は、吸収性は酸化セルロースに比べて遅く、さらに動物由来の材料であるため、狂牛病、クロイツフェルト・ヤコブ病をはじめとする様々な感染症の要因となる可能性が高い。また、微繊維性コラーゲンは、完全に吸収されるのに 1 ヶ月以上を要し、その間患部の炎症、癒着を引き起こす。さらには材料が牛由来のため、狂牛病、未知のウイルスによる感染等の危険性を持っている。

【0004】 すなわち、上記各止血剤を用いた従来の方法による止血は、体内吸収性が悪く、炎症、癒着などを引き起こし易く、さらには未知の感染症に罹患する可能性がある危険性を有するものである。

【0005】 さらに、特開平 10-77571 号公報には、天然もしくは再生セルロース繊維のセルロース分子を構成するグルコース単位中の水酸基を部分的にエーテル化度が 1.0 以上となるようにカルボキシメチル化した、血液と接触した場合に迅速に溶解して血液と共にゼラチン状を呈して創傷面を覆い、止血効果をあげることとなる可溶性止血セルロース繊維について記載されている。

【0006】 しかしながら、カルボキシメチル基の置換度（エーテル化度）が 1.0 以上のものは、血液と接触しても迅速に溶解せず、大量の不要物が残留し、著しい止血効果を示さず、さらに、可溶化したカルボキシメチルセルロース繊維は凝血 XII 因子を始めとする凝血酵素に何ら作用を示さない。

【0007】

【課題を解決するための手段】 そこで、かかる課題を解決すべく、本願発明者は鋭意検討した結果、一定のエーテル化度をもつ天然もしくは再生セルロースが、血液等の組織液の吸収性に優れ、血液と接触した場合には迅速に溶解し、凝血カスケードの活性化によって最終的に活性化されるトロンビンによってフィブリノーゲンから変換されるフィブリンモノマーの凝集反応を促進することにより、止血効果をしめす、すなわち、凝固カスケードの酵素には全く促進作用せず、トロンビンによって作成したフィブリンモノマーの凝集を促進し、さらに、創傷部の血液あるいは体液との接触により速やかに溶解することにより、創傷部への血小板の粘着と凝集を促し、また、接着蛋白であるフィブロンectin と相互作用し、フィブロンectin の細胞接着活性を促す作用を有することを見出した。

【0008】 すなわち、本願発明は、セルロース分子を構成するグルコース単位中の水酸基を置換度（エーテル化度）が 0.5～1.0 未満となるように部分的にカルボキシメチル化した天然もしくは再生セルロース繊維からなるものであり、天然もしくは再生セルロース繊維を

水酸化ナトリウム水溶液で処理した後、モノクロロ酢酸溶液と一定時間、好ましくは4～18時間反応させて、セルロース分子を構成するグルコース単位中の水酸基を部分的に置換度（エーテル化度）が0.5～1.0未満となるようにカルボキシメチル化し、精製することにより可溶性創傷治癒止血セルロース繊維としてみるものである。

【0009】本願発明におけるカルボキシメチル化する天然もしくは再生セルロース繊維としては、数本の甘擦りの単糸からなる引き揃え糸に成形したもの、又は該引き揃え糸を平織りもしくは1/2斜文（いちにしゃもん）織りや1/3斜文（いちさんしゃもん）織り等の綾織りした織地に成形したものをを用いると良く、その際、引き揃え糸の太さを20～100番手とすると望ましい。

【0010】これにより、本願発明に使用する天然もしくは再生セルロース繊維はセルロース分子中のグルコース単位の水酸基のカルボキシメチル化を一定に、安全に、均一にすることが出来る。

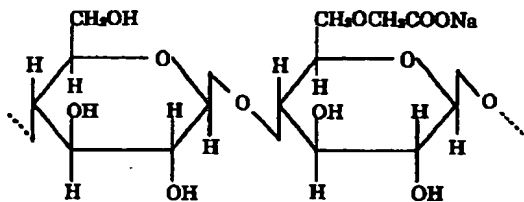
【0011】また、本願発明は、上述のようにカルボキシメチル化した各天然もしくは再生セルロース繊維を、粉碎処理を施すことにより粉状に成形したり、又は反毛処理を施すことにより綿状に成形するようにしてなるものでもある。

【0012】さらに、本願発明は、上述のように製造した各可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を、それぞれ創傷部に施用することにより止血治癒効果を高めてなるようにしたものでもある。

【0013】そして、本願発明の好ましい可溶性創傷治癒止血セルロース繊維は、セルロースを構成する構造単位として次式で示される化学式をもって表すことができる。

【0014】

【化1】



【0015】なお、本願発明の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維は、上記の化学式で表されるものに限定されず、セルロース分子中のグルコース単位中の水酸基が0.5～1.0未満の置換度でカルボキシメチル化（エーテル化）されており、目的とする可溶性創傷治癒止血効果を発揮するものであれば、本願発明の範囲内に包含されることはいうまでもない。

【0016】

*【実施例】以下に本願発明の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の具体的製造実施例、ならびに創傷治癒効果および止血効果を実施試験例にて記述する。可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の製造実施例としては、20本の甘擦りの糸を引き揃えて太さを40番手とした引き揃え糸を1/2斜文織り（いちにしゃもんおり）の織地に成形した天然もしくは再生セルロース繊維70gを1000mLの回転式反応容器に入れ、これに45%水酸化ナトリウム水溶液の38容量と95%エタノール62容量とからなる水酸化ナトリウムのエタノール溶液250mLを加え、よく浸潤させて25℃で2時間攪拌した。次に、この反応液中に、モノクロロ酢酸の40容量と95%エタノール60容量とからなるモノクロロ酢酸反応性溶液210mLを加え、4～18時間程度攪拌した。反応終了後、得られた繊維を含む液の水素イオン濃度（pH）を20%塩酸で7.0に調整し、さらに繊維中のNaClの含有量が1%以下になるまで60～95%エタノール水溶液にて洗浄した。かくして処理されたセルロース繊維を、乾燥、滅菌し、目的物である可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を得た。

【0017】次に、試験例1として、上述の手段にて得られる可溶性創傷治癒止血セルロース繊維のエーテル化度（カルボキシメチル基の置換度）が0.5～1.0未満であることを確認するために、モノクロロ酢酸反応性溶液との攪拌時間に対応するエーテル化度の測定をそれぞれ行った。測定方法は、上記実施例にてモノクロロ酢酸の反応性溶液との攪拌を2、4、8、14、18時間行うことによりそれぞれ製造した各可溶性創傷治癒止血セルロース繊維1gを細かく切り、すり合せ三角フラスコ（50mL）中に入れ、硝酸メタノール溶液25mL（メタノール100mLと硝酸10mLの混合液）を加えて1時間振とうする。次いで、ガラスフィルター（G3）で吸引ろ過することにより試料をトラップし、800g/Lメタノール溶液（無水メタノール100mLと水20mLの混合液）120mL（40mL×3回）で試料を洗浄し、最後に無水メタノール25mLで洗浄後、吸引ろ過し、フィルター上の試料を105℃で2時間乾燥する。さらに、水素型となった試料0.2gを精密に秤量し、すり合せ三角フラスコ（100mL）に入れ800g/Lメタノール8mL及び0.1mol/L水酸化ナトリウム標準液20mLを加え25℃で30分間振とうし、水素型の試料をナトリウム型にする。そして、過剰の水酸化ナトリウムを規定度既知の0.05mol/Lの硫酸でフェノールフタレインを指示薬として滴定することにより行った。測定した結果を「表1」に示す。

【0018】

【表1】

可溶性創傷治癒止血セルロース繊維番号	エーテル化度(カルボキシメチル基の置換度)				
	攪拌反応時間(hr)				
	2	4	8	14	18
1	0.410	0.612	0.701	0.801	0.856
2	0.401	0.611	0.693	0.793	0.823
3	0.421	0.632	0.721	0.812	0.842
4	0.425	0.625	0.688	0.801	0.825
5	0.416	0.601	0.701	0.812	0.831

【0019】上記〔表1〕に示す結果の通り、モノクロロ酢酸との反応時間が約4時間以上で、置換度0.5以上の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を製造することが出来る。従って、モノクロロ酢酸との反応時間を制御することによりカルボキシメチル基の置換度を制御できることが分かる。

【0020】次に、試験例2として、製造した可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の可溶性を確認するために、上記実施例にて製造した可溶性創傷治癒止血セルロース繊維（モノクロロ酢酸との反応時間が14時間のもの）の0.95%食塩水と純水に対する可溶性を測定した。測定方法は、可溶性創傷治癒止血セルロース繊維1gを（1w/v%になるように）、100mLの0.95%食塩水及び水に添加し、25℃で攪拌しながら、目視で不溶物が消失するまでの時間を観察した。その結果を〔表2〕に示す。

【0021】

〔表2〕

可溶性創傷治癒止血セルロース繊維番号	溶解するまでの時間(分)	
	純水	0.95%食塩水
1	30	51
2	31	50
3	29	51
4	31	48
5	30	52

【0022】上記〔表2〕に示す結果の通り、本願発明の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維は、水にも食塩水にも確実に、かつ、速やかに完全に溶解するものである*

*ことが分かる。

【0023】次に、試験例3として、可溶性創傷治癒止血セルロース繊維のフィブリンモノマー凝集活性に対する効果を確認する為に、350nmでの吸光度の測定を紫外可視分光光度計U-3210（日立製作所製）を用いて行った。吸光度の測定は1w/v%の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の存在下あるいは非存在下（コントロール）の0.15mol/L塩化ナトリウム（NaCl）を含む20mmol/Lイミダゾール緩衝液（pH7.4）500μLに、20mmol/L酢酸に溶解したフィブリンモノマー（A280nm=6）を20μL添加し、フィブリンモノマー添加後20秒から30秒毎に20分間350nmの吸光度を測定することにより行った。測定した結果を〔図1〕に示す。

【0024】〔図1〕に示す結果より、可溶性創傷治癒止血セルロース繊維はフィブリンモノマーの凝集を著しく促進することが分かる。

【0025】次に、試験例4として、可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の血小板凝集促進活性効果を確認する為に、血小板凝集能（凝集率）の測定を血小板凝集計（メバニクス社製）を用いて行った。血小板凝集能の測定は1w/v%の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の存在下あるいは非存在下の0.15mol/L塩化ナトリウム（NaCl）を含む20mmol/Lイミダゾール緩衝液と富血小板血漿を1:1の割合で混合し、血小板凝集剤として種々の濃度のADP（アデノシン二リン酸）を添加し、反応液の濁度変化を測定することにより行った。測定した結果を〔表3〕及び〔図2〕に示す。

【0026】

〔表3〕

	可溶性創傷止血セルロース繊維の非存在下				可溶性創傷止血セルロース繊維の存在下			
チャンネル番号	1	2	3	4	5	6	7	8
ADP濃度(μmol)	0.5	1.0	2.0	4.0	0.5	1.0	2.0	4.0
最大凝集率(%)	63	62	66	65	65	68	69	68
出現時間(min)	1.9	2.7	2.7	3.7	3.7	6.1	6.5	6.5
5.0分値凝集(%)	52	57	66	65	64	68	68	67
5.0分面積	2795	2783	2973	2839	2910	2943	2929	2840
解離率(%)	38	20	10	3	8	0	0	0

【0027】[表3]及び[図2]に示す結果より、可溶性創傷治癒止血セルロース繊維は血小板の凝集を著しく促進することが分かる。

【0028】次に、試験例5として、可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の細胞接着促進活性効果を確認する為に、1w/v%の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の添加後に増加した細胞数の測定を行った。接着した細胞数の測定は、細胞接着タンパクフィブロネクチン、ビトロネクチン、ラミニン、コラーゲン、あるいはフィブリ*20

* Nを種々の濃度で96ウェルプレートに被覆し、その上に5,000個のNIH-3T3を入れ、6時間後に一定接着した細胞の数を測定することにより、細胞接着活性を示さない各接着蛋白の濃度を求め、これに1w/v%の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を添加して接着した細胞数を測定することにより行った。測定した結果を「表4」に示す。

【0029】

【表 4】

創傷接着タンパク	創傷接着蛋白濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	可溶性創傷治癒止血セロース纖維 未添加時の接着細胞数	可溶性創傷治癒止血セロース纖維 添加時の接着細胞数
フィブリンネクチン	0.1	20	80
ヒトロネクチン	0.5	10	60
ラミニン	0.1	12	56
コラーゲンⅠ	0.1	5	60
コラーゲンⅢ	0.1	8	62
フィブリン	0.1	10	60

【0030】〔表4〕に示す結果より、可溶性創傷治癒止血セルロース繊維は接着細胞数を著しく増加させること、すなわち細胞接着促進活性を有することが分かった。

【0031】次に、試験例6として、創傷患部に可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を施用した際の止血効果と創傷治癒効果を確認する為に、止血時間の測定及び創傷部の治癒度の確認を行った。止血時間の測定は、10匹のラットの肝臓をそれぞれ1cm×1cm四方で切断し、創部に可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を貼付し、止血時間(秒)を測定することにより行い、未処置※

※のものと比較し、また、治癒度の確認は、創部に可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を貼付し、止血時間の測定をした後閉腹し、1ヶ月後に開腹して創部の病理切断を調製し顕微鏡にて治癒度を目視確認することにより行った。測定した結果および確認した結果を「表5」に示す。なお、創傷部の治癒度の確認は、正常と同じであるものを◎印、少し炎症しているものを○印、炎症癒着しているものを×印で示すこととした。

【 0 0 3 2 】

【表 5】

[illegible]

【0033】〔表5〕に示す結果より、可溶性創傷治癒止血セルロース繊維は著しい止血効果を持ち、かつ、可溶性創傷治癒止血セルロース繊維による処置を施した10匹のラットは、ほとんど完全に治癒して全く炎症等を生じていないことから、可溶性創傷治癒止血セルロース繊維は著しい止血効果と創傷治癒効果を有することが分かる。

【0034】以上のように製造された本願発明の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維は、創傷部位に施用すると血液および組織液の水分を吸収し、血液および組織液の濃度および粘度を増加させ、血液あるいは組織液の流れる速度を減少させるようにして効果的に止血作用を発揮させるとともに、創部において血小板の粘着と凝集を補助し、止血作用を発揮するものである。さらに、本願発明の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維は、フィブロネクチン等の接着タンパクと相互作用し、創傷治癒で重要な役割を示す繊維芽細胞の増延を補助するものでもある。

【0035】なお、上記実施例は可溶性創傷治癒止血セルロース繊維のナトリウム塩について説明したが、本願発明はこれに限らず、可溶性創傷治癒止血セルロース繊維のカルシウム塩や、複数の塩が混在しているものであっても何ら制限されるものでなく、また、上記実施例は何れも織地に成形した可溶性創傷治癒止血セルロース繊維について説明したが、本願発明はこれに限らず、糸状に成形したものや、糸状もしくは織地状の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維に粉碎処理を施すことにより粉状に成形したもの、さらに、糸状もしくは織地状の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維に反毛処理を施すことにより綿状に成形するようしたものであっても、目的とする可溶性創傷治癒止血効果を発揮するものであれば本願発明に含まれてなるものであることは言うまでもない。

【0036】

*

*【発明の効果】以上のように本願発明の創傷治癒止血セルロース繊維は、止血作用が非常に速く効果的で、炎症反応を殆ど起こさず体内吸収性が速やかにおこり、創傷治癒効果が高く、さらには未知の病原体の感染からも完全に免れることができるものである。

【0037】また、本願発明の止血創傷治癒材は、効率よく患部の止血および細胞接着促進性に基づく創傷治癒が可能であるとともに、体内、体外の止血創傷治癒材として非常に有効であり、創傷部位の治癒効果を高める創傷被覆止血材として広い応用分野の可能性があると見出すことが出来た。

【図面の簡単な説明】

【図1】フィブリンモノマーの凝集反応に対する可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の効果を示す吸光度を測定した吸光度と時間の関係を示す図。

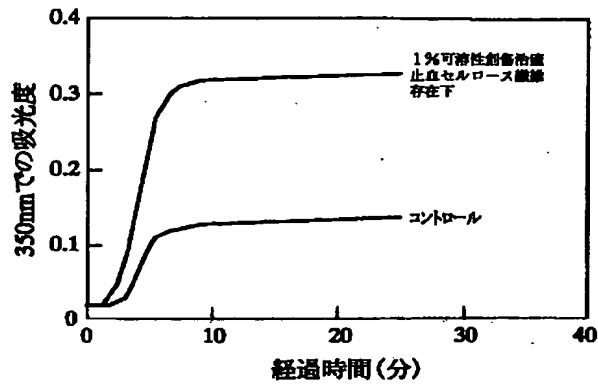
【図2】(A)可溶性創傷治癒止血セルロース繊維非存在下での血小板の凝集状態を測定した凝集率と時間の関係を示す図、(B)可溶性創傷治癒止血セルロース繊維存在下での血小板の凝集状態を測定した凝集率と時間の関係を示す図。

【要約】

【課題】止血創傷部に適用した時にその止血創傷部の水分を吸収して容易に溶解し、血液成分の血小板およびフィブリンの止血作用および創部への細胞接着を補助する新規な可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を提供する。

【解決手段】天然もしくは再生セルロース繊維を水酸化ナトリウム水溶液で処理した後、セルロース分子を構成するグルコース単位中の水酸基を部分的に置換度（エーテル化度）が0.5～1.0未満となるようにモノクロロ酢酸溶液と一定時間反応させてカルボキシメチル化し、精製することにより可溶性創傷治癒止血セルロース繊維とする。

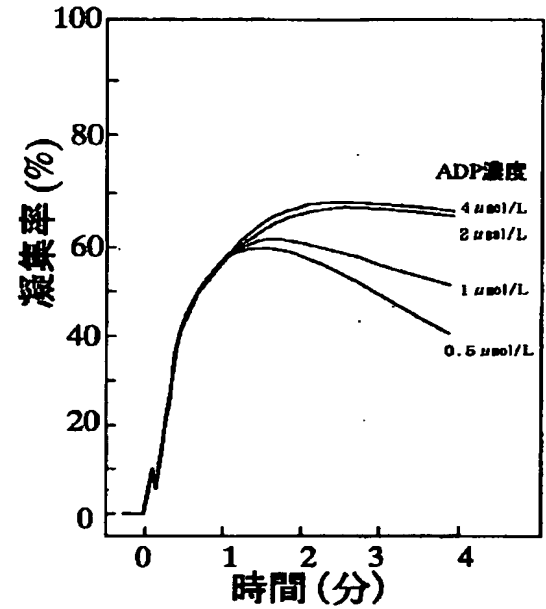
【図 1】



【図 2】

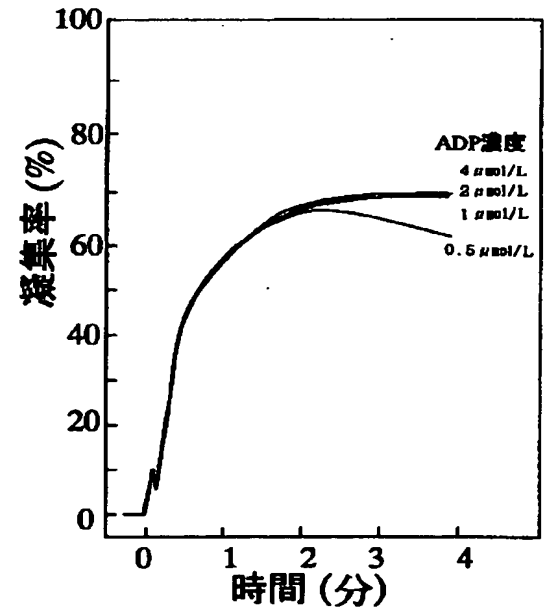
(A)

可溶性創傷止血セルロース繊維の非存在下



(B)

可溶性創傷止血セルロース繊維の存在下



フロントページの続き

(72)発明者 松下 幸一
 東京都文京区湯島 1 丁目 12 番 4 号、株式
 会社 ホギメディカル内

- (56)参考文献 特開 昭49-68595 (J P, A)
特開 平4-84965 (J P, A)
特開 昭61-264003 (J P, A)
特開 平10-77571 (J P, A)

(58)調査した分野(Int. Cl. 7, D B名)

A61L 15/16

A61K 31/715